

〔報告〕キトラ古墳の微生物等の状況報告（2008）

| | |
|-----|---|
| 著者 | 木川 りか，佐野 千絵，間渕 創，喜友名 朝彦，立里 臨，西島 美由紀，杉山 純多 |
| 雑誌名 | 保存科学 |
| 号 | 48 |
| ページ | 167-174 |
| 発行年 | 2009-03-31 |
| URL | http://id.nii.ac.jp/1440/00003751/ |



〔報告〕 キトラ古墳の微生物等の状況報告（2008）

木川 りか・佐野 千絵・間瀬 創・喜友名 朝彦*・立里 臨*・
西島 美由紀*・杉山 純多*²

1. はじめに

キトラ古墳は、高松塚と同時代の壁画を有する古墳であり、2002年に文化庁により調査のための覆い屋が建設され、2004年に石室の発掘が行われた。その後、現在に至るまで壁画の取り外し・保護作業が進められ、2008年には目視で確認される範囲の側壁の絵画部分、また天井の星宿図の取り外し作業が完了した。前報¹⁻⁴⁾において、2003年から2007年までのキトラ古墳石室等における微生物等の状況を順次報告してきたが、本報告では、2008年の状況と知見についてまとめる。

2. 2004年から現在までの概要

2004年1月末から開始された石室内の調査、発掘、壁画の取り出し・保護作業に伴い、2004年3月以降、石室入り口や石室内にカビは継続的に発生している。現在までおよそ週1～2回のカビ等の点検・殺菌作業が文化財研究所によって行われてきており、壁画への被害拡大を抑制するために最大限の努力が続けられてきた。主要なカビ等微生物の種類を調査するとともに、場合によっては絵画にできるだけ影響が少ないと考えられる薬剤により局所的な殺菌作業を行ってきている。しかし、相対湿度が100%に近い高湿度の石室内で微生物の繁殖を抑制することは難しく、石室内の微生物の多様性は徐々に増していき、2005年夏以降には、バクテリアを主体とした、ねばねばしたゲル状の物質（バイオフィルム）が壁画を覆うように発生し、それを基盤としてカビなどの菌類も繁殖しやすい状況となった^{2, 3)}。また、2005年に石室内の漆喰のところどころに穴が生じ、拡大していく現象が確認された^{2, 3)}。また、石室内に残っている漆喰の色も、繰り返し微生物等が発生することによって、年々着色が進み、漆喰そのものの堅牢性にも影響がでている⁴⁾。場所によっては、漆喰がすかすかになっているところや、まるで漆喰が溶けているように見受けられる場所もあり、有機酸などの微生物の代謝物との関連も憂慮された。

可能な限り早期の壁画の取り外し・保護作業が進められるなか、現在、点検においては、基本的には丁寧にカビなどを物理的に除去したあと、局所的に殺菌するという方法を継続している。天井天文図の取り外し・保護が完了した現在、今後の点検のあり方についても、今後の作業の進め方とにらみ合わせて、検討する時期にきている。

3. 漆喰の汚損や侵食

天井などを中心に漆喰表面のカビやバイオフィルムの発生は継続的に起こっており、2005年9月ごろから漆喰に穴が生じる現象も観察されるようになった^{2, 3)}。取り外した漆喰を観察すると、このような穴は裏面から生成してきているように見受けられ²⁾、天井のとくに南側の絵のない部分を中心に漆喰が黒色化してねばねばした様子に変化し、剥離してくる現象がみられた⁴⁾。このような現象は、バイオフィルムに含まれる微生物が原因である可能性が考えられたことから、昨年は、可能な部分については場合によって抗菌剤（ケーソン CG 相当品）を10倍

*（株）テクノスルガ・ラボ

*²（株）テクノスルガ・ラボ東京事務所、東京大学名誉教授

希釈濃度で塗布する方策をとりつつ^{4, 5)}, 順次取り外しが行われた。

2005年9月に天井の漆喰にあいた黒色の穴(直径約10mm)のねばねばした物質から分離された酢酸菌³⁾ *Gluconacetobacter* sp. K5929-2-1b を炭酸カルシウムを含む寒天平板培地(GYC 培地: グルコース100 g, 酵母エキス10 g, 炭酸カルシウム20 g, 寒天15 g, 蒸留水1000ml, pH6.8)に接種すると, 炭酸カルシウムを溶解していくことがわかった(図1: 口絵参照)。酢酸菌だけに限らず, 石室内から分離されたカビやその他のバクテリアなどについても, 有機酸を出す可能性があるため, 現在, 分離株について有機酸の産生能などのバイオフィロファイルを調査中である。

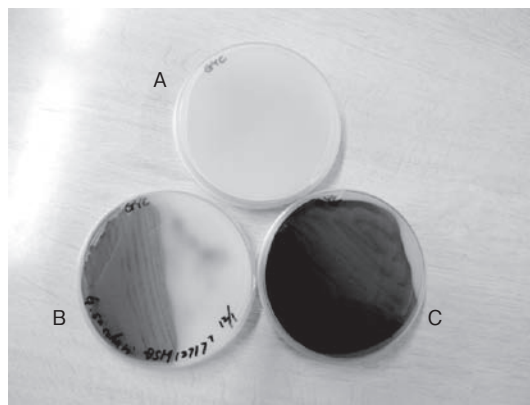


図1 炭酸カルシウムを含む平板培地(GYC 培地, 未接種, A), それに分離株と近縁な酢酸菌基準株(*Gluconacetobacter sacchari* DSM 12717T)を接種した平板培地(B), および2005年9月にキトラ古墳の天井の漆喰にあいた黒色の穴の粘りような物質から分離された酢酸菌 *Gluconacetobacter* sp. K5929-2-1b を接種した平板培地(C)。25℃, 9日間培養後。炭酸カルシウムの溶解および水溶性褐色色素の生成が認められる。

また, 2007年5月ごろから南壁の朱雀を取り外した後の面や, 西壁上などに赤色のスポットが出現しており⁴⁾, これについても, バイオフィルムに含まれる微生物が原因である可能性があることから, 必要に応じて昨年は抗菌剤(ケーソン CG 相当品)を原液の10倍希釈濃度で塗布したところ, 塗布した場所についてはその後しばらくは, 顕著な赤色部の拡大はみられていないとのことであった⁴⁾。しかし, 今年は泥の下に十二支の絵が隠れている可能性のある南面の一部泥の部分に, 赤い部分がさらに発生してきており, 今後の取り外し作業のタイミングや処置についても, その汚染拡大状況とあわせて検討していく必要がある。

4. 石室の微生物の種類

2008年6月17日にキトラ石室内の微生物調査を実施した。微生物サンプルの採取箇所を図2に示す。いずれも絵のない箇所である。また, 各試料の観察所見を表1に, 試料観察像を図3(口絵参照)にまとめた⁶⁾。

菌類(カビと酵母)の培養法による分離結果を表2に示す。使用した分離培地はポテトデキストロース寒天培地(pH5.6; 日本製薬, 東京)である。8箇所のサンプルから菌類約80株が分離され, 主としてそれらの形態的特徴から *Penicillium* sp. をはじめとして, *Clonostachys* sp., *Cladosporium* sp., *Phialophora* sp., *Ophiostoma* sp., *Cylindrocarpus* sp., *Phialocephala* sp., *Trichoderma* sp. などが検出されているが, 今回石室内で新たに検出された属は見当たらなかった。また, 2006年から天井の天文図に発生していた黒色の菌類(担子菌類) *Burgoa* 属³⁾や, 石室内でみられた暗色系の *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp.³⁾ は, 今回は分離されなかった。

バクテリアの培養法による分離結果については表3に示す。分離に使用した培地は好気性細菌一般用に Nutrient agar (Code CM3, pH7.4; Oxoid, Hampshire, UK), 酢酸菌用に酢酸菌分離用培地(ポテトエキス100ml, グルコース10 g, エタノール5 ml, ペプトン3 g, 酵母エキス5 g, 炭酸カルシウム5 g, 蒸留水900ml, 寒天10 g, pH 無調整)をそれぞれ用いた。酢酸菌用分離培地により酢酸菌と推定される分離株を取得した。その後の詳しい試験(とくに16S rRNA 遺伝子塩基配列の決定と系統解析, 未発表)により, 試料1(天井北東隅の茶色の

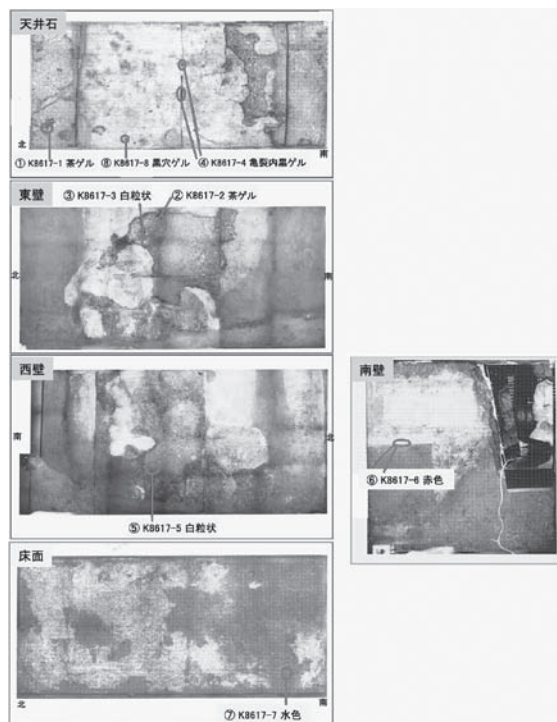


図2 キトラ古墳石室内微生物分析用試料サンプリング箇所
(2008年6月17日)

表1 キトラ古墳石室内採取試料（2008年6月17日）と各試料の観察所見*

| 試料番号 | 採取箇所 | 観察所見 | 観察像 |
|---------|-------------------------------------|--|------|
| K8617-1 | 天井壁 北東側隅付近（石の上）茶ゲル 080617 | 黄土色～黄褐色の“ゲル状塊”は無数のバクテリアの細胞や菌類の細胞が混在したバイオフィルムと考えられる。特に、茶褐色に着色した菌類の細胞（堅固な柄（分生子柄：Phialocephala-like）や分生子）が多数認められた。 | 図3 A |
| K8617-2 | 東壁 中央上部付近（漆喰はぎとり後）茶褐色ゲル 080617 | 黄褐色～茶褐色の“ゲル状塊”は無数のバクテリアの細胞や菌類の細胞、トビムシ等の微小動物の体片が混在したバイオフィルムと考えられる。特に、茶褐色の色調の主因として、茶褐色に着色した菌類の細胞（堅固な柄（分生子柄：Phialocephala-like）や分生子など）の存在が考えられた。 | 図3 B |
| K8617-3 | 東壁 中央上部付近（漆喰はぎとり後）白粒状 080617 | “白い粒”は漆喰由来と考えられ、暗褐色の菌類の菌糸がその表面を覆っている様子が観察された。また、“ゲル状塊”も認められ、無数のバクテリアの細胞や菌類の細胞（茶褐色の菌糸や分生子）が混在したバイオフィルムであった。 | 図3 C |
| K8617-4 | 天井壁 中心部の亀裂内2ヶ所 黒色ゲル 080617 | 黒褐色の“ゲル状塊”は無数のバクテリアの細胞や菌類の細胞が混在したバイオフィルムと考えられる。特に、茶褐色に着色した菌類の細胞（菌糸、堅固な柄（分生子柄）や分生子）が多数認められた。 | 図3 D |
| K8617-5 | 西壁 中央付近（漆喰はぎとり後）白い粒状 080617 | “白い粒”は漆喰由来と考えられ、暗褐色の菌類の菌糸がその表面を覆っている様子が観察された。また、一緒に採取された黄土色の塊は無数のバクテリアの細胞や菌類の細胞、トビムシ等の微小動物の体片が混在したバイオフィルムと考えられる。 | 図3 E |
| K8617-6 | 南壁 朱雀取外し跡付近（漆喰はぎとり後）石材上の赤色ゲル状080617 | 赤色の“ゲル状塊”は無数のバクテリアの細胞や菌類の細胞が混在したバイオフィルムと考えられた。赤色の色調の由来については微生物の代謝産物による可能性が示唆されるものの、その正体は不明である。また、茶褐色に着色した菌類の細胞（菌糸、分生子や厚壁孢子）が多数認められた。 | 図3 F |
| K8617-7 | 床面 南側 水色 080617 | ろ紙上に採取された緑色の“ゲル状塊”は無数のバクテリアの細胞や菌類の細胞が混在したバイオフィルムと考えられた。その中、 <i>Penicillium</i> 属菌の球形で1細胞の分生子が多数、観察されたことから、緑色の色調の主因は <i>Penicillium</i> 属菌による可能性が示唆された。 | 図3 G |
| K8617-8 | 天井壁 西側の黒い穴の内部 黒褐色ゲル状080617 | 黒褐色の“ゲル状塊”は無数のバクテリアの細胞や菌類の細胞が混在したバイオフィルムと考えられる。特に、茶褐色に着色した菌類の細胞（菌糸、堅固な柄（分生子柄）や分生子）が多数認められた。 | 図3 H |

*採取試料よりスライド標本を作製し、光学顕微鏡下で検鏡した所見（検鏡像は図3参照）。

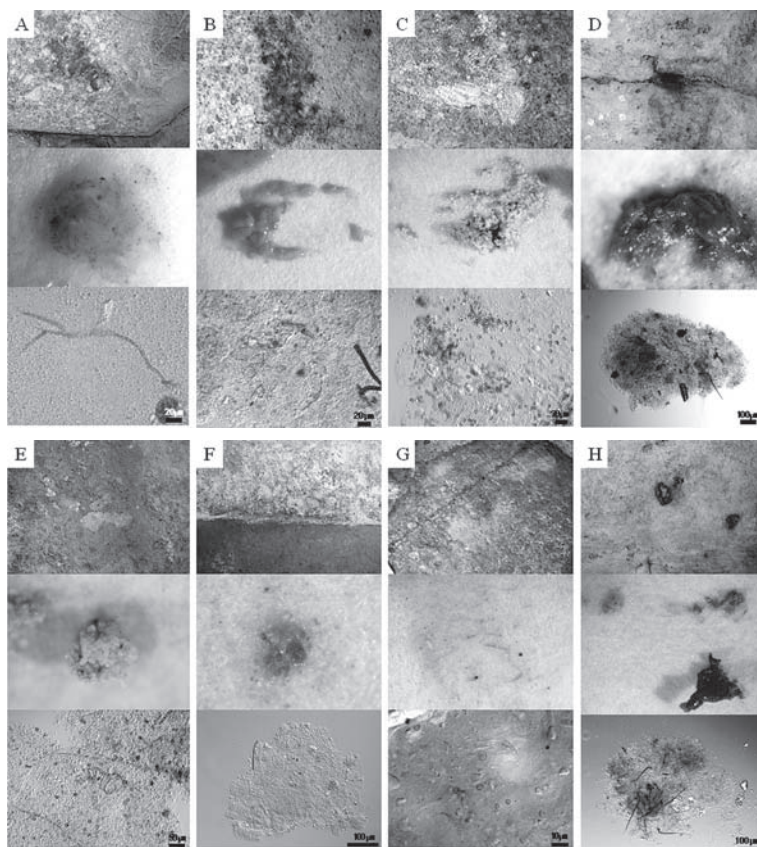


図3 キトラ古墳石室内微生物分析用採取試料（2008年6月17日）の観察像。A：K8617-1, B：K8617-2, C：K8617-3, D：K8617-4, E：K8617-5, F：K8617-6, G：K8617-7, H：K8617-8（各試料の詳細は表1を参照）。（各写真共に）上段：試料採取箇所
の拡大像，中段：採取した試料の実体顕微鏡下での観察像，下段：光学顕微鏡観察像。
「古墳壁画保存活用検討会（第2回），資料4，参考資料 キトラ古墳石室内採取8
試料（2008年6月17日採取）に関する観察所見（2008）」⁶⁾より抜粋。

ゲル），試料3（東壁白粒状の物体），試料7（床南側のゲル）より酢酸菌の一種 *Gluconacetobacter* sp. が分離，同定された。このことから，このバクテリアが石室内の広い範囲に分布していることが示唆された。この種類のバクテリアが酢酸を産生し，炭酸カルシウムを溶解する（図1，培地組成が分離用とは少し異なる。詳しくは前述3参照）ことを考えると，これらのバクテリアによる漆喰への影響が憂慮され，今後の対策について検討が必要である。

殺菌剤の使用については，分解産物がかえって栄養源になる可能性なども考慮すると，被害の程度と，泥の下にある可能性のある絵画や余白部分の今後の取り外し予定とにらみあわせながら，慎重に使用法を判断する必要がある，現在は物理的な除去と局所的な殺菌に限定して処置を行い，経過を観察している。

5. 空中浮遊菌数

2006年から2008年まで継続して施設内の浮遊菌調査を継続している。図4，図5に浮遊菌調査の結果を示した。結露がおこりやすい時期などに通路などの浮遊菌数が増加し，汚染度があがってきたと判断される場合には，適宜除菌清掃などを実施し，施設の衛生管理に役立て，少しでも絵画への汚染を減らす努力を継続している。

表2 キトラ古墳石室内採取試料 (2008年6月17日) からの菌類 (カビ, 酵母) の培養法による分離結果概要

| 試料番号 試料採取箇所 菌種名 | K8617 | | | | | | | |
|--|-------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------------------|------------------------|---------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| | 1 天井石 北東隅 茶色ゲル | 2 東壁 中央上部 茶褐色ゲル | 3 東壁 中央上部 白粒状 | 4 天井壁 中心部亀裂内 2ヶ所 黒色ゲル | 5 西壁 中央付近 白粒状 | 6 南壁 朱雀取外跡 石材上 赤色ゲル | 7 床面 南側 水色カビ | 8 天井壁 西側 黒い穴内部 黒褐色ゲル |
| <i>Acremonium</i> cf. <i>strictum</i> | | | | | + | + | + | |
| <i>Cladosporium</i> spp. | + | | + | | | + | | + |
| <i>Clonostachys</i> spp. | | | | + | + | + | | |
| <i>Cylindrocarpum</i> sp. | | | | | | + | | |
| <i>Ophiostoma</i> sp. | | | | | | | + | + |
| <i>Penicillium</i> sp. 1 (<i>P. paneum</i>) | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Penicillium</i> spp. | | + | | | + | + | + | + |
| <i>Phialocephala</i> spp. | | | | | | + | | |
| <i>Phialophora</i> spp. | | | | + | + | + | + | + |
| <i>Trichoderma</i> spp. | | | | | + | + | | |
| Unidentified hyphomycete spp. | | + | | + | + | + | | |
| Sterile mycelium spp. | | | | + | + | + | + | + |
| Yeast spp. | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 分離株数 | 4 | 4 | 3 | 16 | 15 | 23 | 8 | 10 |

+ : 各試料から当該菌類が分離されたことを示す

表3 キトラ古墳石室内採取試料 (2008年6月17日) からのバクテリアの培養法による分離結果概要

| 試料番号* | 分離株番号 ¹⁾ | コロニー色調 | コロニー 粘稠性 ²⁾ | グラム 染色性 ³⁾ | 細胞形態 (μm) | 芽胞形成 ²⁾ | 滑走運動 ²⁾ | 表現型形質 による群別 |
|------------------|---------------------|--------|---------------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|----------------|
| K8617-1 (天井石) | K8617-1-1b | 黄色 | - | - | 桿菌 (0.8-0.9×1.5-2.0) | - | - | 1 |
| K8617-2 (東壁) | K8617-2-1b | クリーム色 | - | 不定 | 桿菌 (0.9-1.0×1.5-2.0) | + | - | 2 |
| K8617-3 (東壁) | K8617-3-1b | クリーム色 | - | - | 桿菌 (0.8-1.0×1.5-2.0) | + | - | 3 |
| | K8617-3-2b | 淡黄色 | - | - | 桿菌 (0.7-0.8×1.5-2.5) | - | - | 4 |
| | K8617-3-3b | 黄色 | - | + | 桿菌 (0.6-0.7×1.0-1.2) | - | - | 5 |
| | K8617-3-4b | 黄色 | - | - | 桿菌 (0.8-0.9×1.5-2.0) | - | - | 1 |
| K8617-4 (天井壁) | K8617-4-1b | 淡黄色 | - | - | 桿菌 (0.7-0.8×1.0-1.5) | - | - | 6 |
| | K8617-4-2b | 淡黄色 | + | - | 桿菌 (0.8-0.9×1.0-1.5) | - | - | 7 |
| | K8617-4-3b | 淡黄色 | + | - | 桿菌 (0.6-0.7×1.0-1.2) | - | - | 8 |
| | K8617-4-4b | 淡黄色 | + | - | 桿菌 (0.7-0.8×1.0-1.2) | - | + | 9 |
| | K8617-4-5b | 淡黄色 | - | - | 桿菌 (0.6-0.7×1.0-1.5) | - | - | 10 |
| K8617-5 (西壁) | K8617-5-1b | クリーム色 | - | + | 桿菌 (0.8-0.9×1.5-2.5) | + | - | 3 |
| | K8617-5-2b | 淡黄色 | + | - | 桿菌 (0.6-0.7×1.2-1.5) | - | - | 9 |
| K8617-6 (南壁) | K8617-6-1b | 淡黄色 | - | - | 桿菌 (0.6-0.7×1.0-1.2) | - | - | 6 |
| | K8617-6-2b | 淡黄色 | + | - | 短桿菌 (0.5-0.6×0.8-1.0) | - | + | 9 |
| | K8617-6-3b | 淡黄色 | - | - | 短桿菌 (0.5-0.6×0.8-1.0) | - | - | 11 |
| | K8617-6-4b | 淡黄色 | + | - | 桿菌 (0.7-0.8×1.2-1.5) | - | - | 12 |
| K8617-7 (床面) | K8617-7-1b | 淡黄色 | - | 不定 | 桿菌 (0.9-1.0×1.5-2.5) | + | - | 3 |
| | K8617-7-2b | 淡黄色 | - | 不定 | 桿菌 (0.9-1.0×1.5-2.5) | + | - | 13 |
| | K8617-7-3b | 黄色 | - | - | 桿菌 (0.7-0.8×1.2-1.5) | - | - | 1 |
| K8617-8 (天井壁) | K8617-8-1b | 淡黄色 | + | - | 桿菌 (0.6-0.7×1.2-1.5) | - | + | 9 |
| | K8617-8-2b | 淡黄色 | - | 不定 | 桿菌 (0.7-0.8×1.5-2.0) | - | - | 14 |
| | K8617-8-3b | 淡黄色 | - | - | 桿菌 (0.6-0.7×1.0-1.5) | - | - | 15 |

*各試料の詳細は表1を参照のこと。

1) 網掛けで示した3菌株 (K8617-1-1b, K8617-3-4b, K8617-7-3b) は酢酸菌分離培地 (組成は本文参照) により分離された菌株を示す。

2) 「+」はコロニー粘稠性、芽胞形成、滑走運動が観察されたことを示す、「-」は観察されなかったことを示す。

3) 「+」はグラム陽性、「-」はグラム陰性を示す。

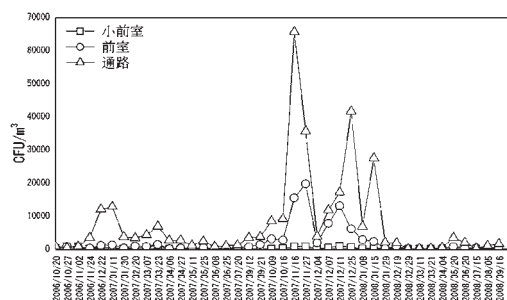


図4 キトラ古墳保存施設内の浮遊真菌数測定結果
浮遊真菌測定については、エアサンプラーBIO SAMP MBS-1000（ミドリ安全製）を用い、φ9cm シャーレのMA培地/PDA培地にシャーレ1枚につき、20～30CFU程度となるよう、季節や測定箇所により10～100ℓの範囲で空気のスAMPLING量を調節してふきつけ、約25℃で4日間培養後にCFUを計数しCFU/m³を求めた。

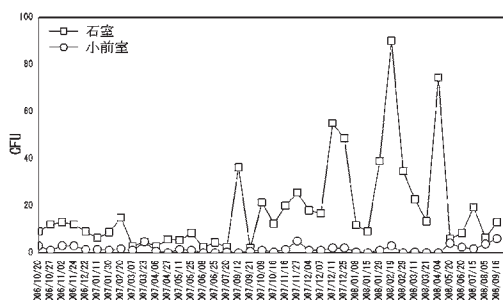


図5 キトラ古墳石室、小前室の落下真菌数測定結果
落下真菌測定については、φ9cm シャーレのMA培地/PDA培地のふたをあけ、10分間静置したのちふたをしめて回収し、約25℃で4日間培養後にCFUを計数した。

6. 殺菌に使用する薬剤

カビへの効力と、絵画の色材への安全性、および作業への安全性の各方面を考慮した結果、局所的な処置用の殺菌剤として使用しているエタノールは、薄まったときに一部のバクテリアや酵母などの栄養源として利用される可能性が指摘され⁷⁾ 今後の使用方針については熟慮すべき時期にきている。また、とくに堅牢な構造をもつ *Phialocephala* sp. のカビや、担子菌類の *Burgoa* 属、床面に *Penicillium* sp. が大発生したときに用いられてきたホルムアルデヒド（ホルマリン）については、「労働安全衛生法施行令の一部を改正する政令」、「特定化学物質障害予防規則等の一部を改正する省令」により、平成20年3月1日より「特定化学物質第2類」物質へ指定された。

キトラ古墳におけるホルムアルデヒドの使用頻度は低く常時使用にはあたらないが、厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質評価室に相談のうえ、緊急対応設備など必要な施設改善を行い、また当該作業に従事する作業員に対して健康管理の徹底や、法令を順守するように対応した。いずれにしても、ホルムアルデヒド（ホルマリン）の使用については、今後どうしても必要に迫られた場合に限定していかざるを得ないであろう。

7. まとめ

2008年には、目視で確認される範囲の側壁の絵画部分、また天井の星宿図の取り外し作業が担当者の多大な努力によって完了し、残すは、泥の下に隠されている可能性のある十二支の絵と余白のみとなっている。しかし、十二支の絵が隠れている可能性のある南面の一部泥の部分に、赤いゲル状の物質が発生してきているなど、今後の取り外し作業のタイミングや処置についても、その汚染状況とあわせて検討していく必要がある。殺菌剤の使用については、分解産物がかえって栄養源になる可能性なども考慮すると、被害の程度と、今後の取り外し作業方針や予定とにらみあわせながら、慎重に判断する必要がある。現在は物理的な除去と局所的な殺菌を中心に処置を行い、経過を観察しているところである。目で見える範囲の石室内の絵画がすべて保護された現在、点検の頻度や薬剤の使用以外の殺菌方法などについても、あわせて検討する時期にきていると考えられる。

引用文献

- 1) 木川りか, 佐野千絵, 間渕創, 三浦定俊: キトラ古墳の前室および石室における菌類調査報告, 保存科学, 44, 165-171 (2005)
- 2) 木川りか, 間渕創, 佐野千絵, 三浦定俊: キトラ古墳における菌類等生物調査報告 (2), 保存科学, 45, 93-105 (2006)
- 3) 木川りか, 佐野千絵, 間渕創, 三浦定俊: キトラ古墳における菌類等生物調査報告 (3), 保存科学, 46, 227-233 (2007)
- 4) 木川りか, 間渕創, 佐野千絵, 三浦定俊: キトラ古墳の微生物等の状況報告 (2007), 保存科学, 47, 129-134 (2008)
- 5) 木川りか, 佐野千絵, 立里臨, 喜友名朝彦, 小出知己, 杉山純多: キトラ古墳のバイオフィルムから分離されたバクテリア・菌類に対するケーソン CG 相当品 (抗菌剤) の効果, 保存科学, 46, 39-50 (2007)
- 6) 古墳壁画保存活用検討会 (第2回), 資料4, 参考資料 キトラ古墳石室内採取8試料 (2008年6月17日採取) に関する観察所見 (2008) 文化庁
- 7) Nagatsuka, Y., Kiyuna, T., Kigawa, R., Sano C., Miura, S and Sugiyama, J.: *Candida tumulicola* sp. nov. and *Candida takamatsuzukensis* sp. nov., novel yeast species assignable to the *Candida membranifaciens* clade, isolated from the stone chamber of the Takamatsu-zuka tumulus, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 59, 186-194 (2009)

キーワード: 古墳 (tumulus); 生物劣化 (biodeterioration); 菌類 (fungi); カビ (molds);
バクテリア (bacteria); 酢酸菌 (acetic acid bacteria)

Biological Issues in Kitora Tumulus during Relocation Works of the Mural Paintings (2008)

Rika KIGAWA, Chie SANO, Hajime MABUCHI, Tomohiko KIYUNA*,
Nozomi TAZATO*, Miyuki NISHIJIMA* and Junta SUGIYAMA*²

In January 2004, excavation of the Kitora Tumulus took place and the relocation of the paintings started. However, after people began to go into the tumulus, we started to see fungal growth. In the beginning, fungi such as *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp. and *Fusarium* sp. were seen inside the tumulus. Ethanol was mainly used to kill and remove such fungal colonies, as it was thought to be one of the mildest of fungicides with respect to the pigments used in the murals. In early 2005, small colonies of viscous gel appeared on some parts of the walls. In the summer of 2005, the viscous gels (biofilms) suddenly developed to form biofilms on the plaster walls. In the fall of 2005, small holes with black substances inside became obvious on the plaster walls; the holes seemed to have developed from the back side of the plaster. Such holes might have been caused by the activity of microbes, especially by an acetic acid bacterium, *Gluconacetobacter* sp. The acetic acid bacterium had been isolated from one of the black substance from a hole of the ceiling.

In 2008, almost all of the paintings on the side walls and the star charts on the ceiling were relocated, except for those which might have been hidden by a thin layer of mud on the walls. By a survey in June 2008, species of the fungal genera *Penicillium*, *Clonostachys*, *Cladosporium*, *Phialophora*, *Ophiostoma*, *Cylindrocarpon*, *Phialocephala* and *Trichoderma* were isolated from the eight gel samples from the interior of the stone chamber. But the basidiomycetous fungus *Burgoa* sp. and the anamorphic fungus *Acremonium* (sect. *Gliomastix*) sp. were not isolated this time. An acetic acid bacterium, *Gluconacetobacter* sp., was isolated from three samples out of eight, which suggested that this bacterium might spread to various parts of the stone chamber's interior. As this bacterium was shown to decompose CaCO_3 , there is strong concern on its effect on the plaster.

Chemicals to treat microbes in Kitora Tumulus has been selected from consideration of their efficacy on microbes, possible adverse effects on paintings and toxicity to human. Mainly, ethanol, isopropanol, formalin and isothiazolones (KathonTM CG) have been used depending on conditions of the plaster or the stones and purposes. Selection and the way of using the chemicals must be carefully designed in line with the timing of further relocation of the plaster. Some chemicals might be a carbon source to encourage growth of some microbes or secretion of acids by them. Special caution to such side effects is necessary.

*TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd.

*² TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd., Tokyo Office, professor emeritus at the University of Tokyo